

**Tena KUVEŽDIĆ<sup>1</sup>, Marija DUVNJAK<sup>2</sup>, Irina TANUWIDJAJA<sup>1</sup>, Mirna MRKONJIĆ  
FUKA\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za mikrobiologiju

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za hranidbu životinja  
mfuka@agr.hr

## **PROGNOZA POJAVNOSTI MIKOTOKSIKOVORNIH PLIJESNI NA POLJOPRIVREDNIM KULTURAMA**

### **SAŽETAK**

Sinteza mikotoksina odvija se u specifičnim okolišnim uvjetima od kojih se temperatura, vlaga i CO<sub>2</sub> navode kao ključni čimbenici za produkciju mikotoksina. Klimatske promjene te sve češći vremenski ekstremi značajno mijenjaju te čimbenike pa se posljedično narušavaju poznati obrasci kontaminacije plijesnima i sinteze mikotoksina na poljoprivrednim kulturama. Međutim, smatra se da će promjene povezane s kontaminacijom mikotoksikogenim plijesnima biti regionalne i usko u vezi s pojedinim vrstama plijesni, jer svaka vrsta ima svoje optimalne okolišne uvjete za rast i stvaranje toksičnih metabolita. Predviđa se da bi aflatoksini mogli postati učestali kontaminanti žitarica u Europi, a u tropskim predjelima moguće je izumiranje aflatoksikogenih plijesni zbog visokih temperatura. Za mikotoksikogene plijesni koje produciraju okratoksine, kao i za predstavnike roda *Fusarium*, također će biti izmijenjeni obrasci rasprostranjenosti i produkcije mikotoksina. Posebno zabrinjava porast prisutnosti plijesni *F. graminearum*, *F. poae* i *F. langsethiae* na žitaricama u sjevernoj i srednjoj Europi te posljedično kontaminacija tih usjeva deoksinivalenolom te T-2 i HT-2 toksinima. Pojavnost *F. verticillioides* i kontaminacija kukuruza fumonizinima bit će još više izražena na području južne Europe, kao i kontaminacija vina okratoksinima od plijesni *A. carbonarius*. S obzirom na očigledne klimatske promjene i posljedice koje one ostavljaju, nužna su daljnja istraživanja koja bi omogućila uspješno osmišljavanje strategija za prevenciju kontaminacije usjeva mikotoksinima u budućnosti.

**Ključne riječi:** mikotoksini, plijesni, poljoprivreda, okolišni čimbenici

### **UVOD**

Mikotoksini su sekundarni metaboliti mikotoksikogenih plijesni koji nastaju kao odgovor plijesni na stresne okolišne uvjete, a u ljudi i životinja izazivaju bolesti koje nazivamo mikotoksikoze (Mitak, 2015.). Mikotoksini mogu ući u prehrambeni lanac izravno, konzumacijom kontaminirane namirnice ili, neizravno, preko rezidualnih ostataka mikotoksina u mlijeku, mesu ili jajima. Jednom kada se pojave u usjevu ili gotovoj namirnici vrlo ih je teško iz njih

.....

ukloniti (Haque i sur., 2020.). Danas je poznato nekoliko stotina različitih mikotoksina od kojih su aflatoksini, okratoksini te fuzarijski mikotoksini prepoznati kao najveći problem i najčešće prisutni mikotoksini u različitim tipovima namirnica u svijetu (CAST, 2003.).

Metabolizam plijesni, pa tako i produkcija mikotoksina, pod značajnim su utjecajem abiotičkih i biotičkih čimbenika. Razina kolonizacije sirovine ili gotove namirnice plijesnima te vrsta i količina mikotoksina koju će producirati ovisi o udjelu vlage u supstratu i okolišu, temperaturi zraka, vrsti i pH-u supstrata, dostupnosti hranjiva, zrelosti kolonije, prisutnosti drugih vrsta plijesni, mehaničkom oštećenju supstrata i drugim čimbenicima (Bhat i sur., 2010.). Agrotehnički postupci prilikom uzgoja usjeva u kombinaciji s vremenskim prilikama utječu na pojavu štetnika koji izazivanjem mehaničkih oštećenja na biljkama povećavaju mogućnost kontaminacije mikotoksinima. Međutim, čimbenici koji će ipak najviše utjecati na produkciju mikotoksina u budućnosti svakako su promijenjeni ekološki uvjeti prouzročeni klimatskim promjenama (Pleadin i sur., 2020.). Visoke temperature u kombinaciji s ekstremnim vremenskim uvjetima dovode do stresa u biljkama, čime su one sklonije infekciji plijesnima, a posljedično i kontaminaciji mikotoksinima (Pleadin i sur., 2020.).

Budući da poljoprivreda uvelike ovisi o klimi, njezinoj promjenjivosti i ekstremima, klimatske promjene značajno će utjecati na primarne poljoprivredne sustave, a time i na zdravstvenu ispravnost hrane, pri čemu se mikotoksini ističu kao jedan od najvećih izazova. Istraživanja ukazuju na to da će izmijenjeni klimatski čimbenici, kao što su visoke temperature, visoke koncentracije CO<sub>2</sub> te česti ekstremni vremenski uvjeti, izmijeniti pojavnost mikotoksikogenih plijesni u određenim geografskim predjelima, čime će postati zdravstvena ugroza i teret gospodarstvu u regijama gdje do sada nije bilo tako (EFSA, 2020.), pa će aflatoksini čija je pojavnost bila karakteristična za tropske predjele postati važan čimbenik za sigurnost hrane i u umjerenom klimatskom području (Čuklić i sur., 2019.). S druge strane, u tropskim predjelima aflatoksikogene plijesni mogle bi izumrijeti zbog visokih temperatura i smanjenja vlažnosti zraka koje imaju negativan utjecaj na njihov rast (Paterson i Lima, 2017.). Nadalje, fuzarijski mikotoksini koji su do sada bili svojstveni za umjereni pojas mogli bi se pojaviti u sjevernim predjelima i činiti velike štete na žitaricama (Moretti i sur., 2019.), a okratoksini bit će velik problem za industriju vina na području Sredozemlja. U ovom preglednom radu bit će prikazane dosadašnje spoznaje o najznačajnijim mikotoksikogenim plijesnima i njihovim mikotoksinima na pojedinim poljoprivrednim kulturama te kako bi trenutačne i buduće promjene okolišnih uvjeta mogle utjecati na njihovu pojavnost i produkciju mikotoksina.

## NAJZNAČAJNIJE SKUPINE MIKOTOKSIKOVORNIH PLIJESNI I OKOLIŠNI UVJETI KOJI DIKTIRAJU NJIHOV RAST I PRODUKCIJU MIKOTOKSINA

Mikotoksikogene plijesni pojavljuju se i sintetiziraju mikotoksine pri točno određenim okolišnim uvjetima, od kojih temperatura i aktivitet vode ( $a_w$ ) najviše utječu na njihovu pojavnost i sintezu mikotoksina (Pleadin i sur., 2020.). Općenito mikotoksikogene plijesni imaju tendenciju nastanjanja područja s toplom i vlažnom klimom (Pleadin i sur., 2019.).

Plijesni kao što su *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* i *Aspergillus ochraceus* produciraju aflatoksine, mikotoksine koji kontaminiraju različite namirnice biljnog i životinjskog podrijetla, a kod ljudi i životinja izazivaju bolesti – aflatoksioze. Te plijesni osobito su zastupljene u tropskim krajevima gdje kontaminiraju žitarice (kukuruz, sirak, pšenica i riža), uljarice (sjemenke soje, kikirikija, suncokreta i pamuka), začine (čili papričica, crni papar, korijander, kurkuma i đumbir), kao i orašaste plodove (pistacija, bademi, orah, kokos i brazilski oraščić). Produkcija aflatoksina intenzivna je prilikom temperatura između 24 i 35 °C i aktiviteta vode od 0,99 (Mitak, 2015.), a za rast aflatoksikogenih plijesni potrebna je temperatura između 10 i 43 °C te aktivitet vode od 0,80 do 0,99 (Thanushree i sur., 2019.). Najznačajniji su predstavnici aflatoksina aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) te aflatoksin M<sub>1</sub> koji imaju izrazita kancerogena i mutagena svojstva (Mitak, 2015.).

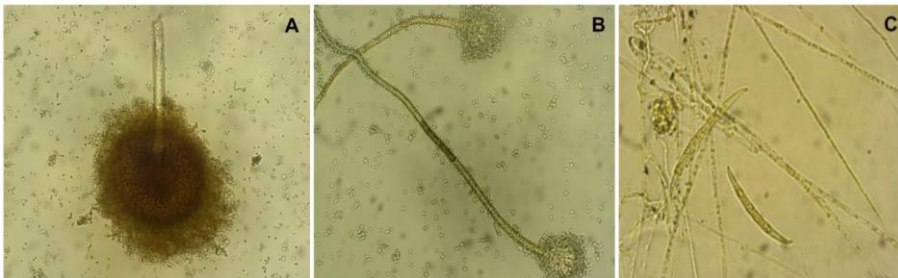
Okratoksini su mikotoksini koje produciraju rodovi plijesni *Penicillium* i *Aspergillus*. Karakteristični su za umjereni klimatski pojas gdje kontaminiraju žitarice, kavu, začinsko bilje, a pronađeni su i u vinu i pivu kada se prilikom proizvodnje koriste kontaminirane sirovine (Miličević i sur., 2014.). Okratoksin A (OTA) najznačajniji je predstavnik okratoksina koji posjeduje nefrotoksična, imunotoksična i kancerogena svojstva, a produciraju ga vrste plijesni *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Penicillium viridicatum* te *Penicillium verrucosum* (Duarte i sur., 2011.). Temperatura prilikom koje rastu plijesni koje produciraju OTA ovisi od vrste do vrste. Tako je za *Aspergillus ochraceus* optimalna temperatura 31 °C, a za *Penicillium verrucosum* 20 °C (Thanushree i sur., 2019.). Raspon temperatura prilikom kojih se sintetiziraju okratoksini iznosi od 25 °C do 30 °C, ovisno o vrsti izolata. Osim navedenih čimbenika, za produkciju okratoksina vrlo je bitan nutritivni sastav namirnice (Pleadin i sur., 2020.).

Rod *Fusarium* jedan je od najpoznatijih rodova plijesni, a ujedno i biljnih patogena, čiji utjecaj zbog mnogih različitih tipova mikotoksina koje produciraju vrste unutar ovog roda prerasta utjecaj bilo koje druge skupine mikotoksikogenih plijesni (Munkvold, 2017.). Taj rod najčešće nastanjuje predjele s umjerenom klimom, a posebno im pogoduje mnogo oborina i podnose velike temperaturne amplitude. Fuzarijske plijesni sintetiziraju velik broj mikotoksina, od kojih su najznačajniji fumonizini (FUM), deoksinivalenol

(DON) te T-2 i HT-2 toksini. *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. verticillioides* i *F. cerealis*, kao najvažniji producenti fumonizina, kontaminiraju kukuruz, pšenicu, raž, zob, rižu, šećernu trsku, a mogu se pojaviti i u mlijeku (Haque i sur., 2020.). Optimalan je raspon temperature za rast fuzarijskih plijesni i produkciju fumonizina između 15 i 30 °C (Thanushree i sur., 2019.). Osim fumonizina, jedan je od najznačajnijih predstavnika fuzarijskih mikotoksina deoksinivalenol koji produciraju plijesni *F. graminearum* i *F. culmorum*, a pojavljuje se na žitaricama, osobito na pšenici, kao i u namirnicama životinjskog podrijetla na području umjerenog klimatskog pojasa. Optimalan raspon temperatura za produkciju DON-a, ali i za rast plijesni koje ga produciraju, iznosi od 25 do 30 °C (Pleadin i sur., 2020.). *F. langsethiae*, *F. moniliforme* i *F. nivale* pridonose kontaminaciji žitarica, osobito zobi i ječma, T-2 toksinom. Optimalni temperaturni uvjeti rasta tih plijesni kreću se od 10 do 30 °C, a, kao i ostale *Fusarium* vrste, zahtijevaju visoke vrijednosti aktiviteta vode (0,93-0,95) za rast i produkciju mikotoksina (Thanushree i sur., 2019.).

DON i ZEN najčešće nalazimo na pšenici, T-2 i HT-2 toksine na zobi, a fumonizine na kukuruzu (Domaćinović i sur., 2012., Paterson i Lima, 2017., Samardžija i sur., 2017., Pleadin i sur., 2019.).

Na slici 1 prikazani su neki od najznačajnijih predstavnika mikotoksikogenih plijesni pod svjetlosnim mikroskopom.



**Slika 1.** Izgled mikotoksikogenih plijesni pod svjetlosnim mikroskopom (povećanje x1000). A) *Aspergillus niger*; B) *Aspergillus ochraceus*; C) *Fusarium graminearum* (snimila T. Kuveždić)

U tablici 1 prikazane su pojedine vrste mikotoksikogenih plijesni te raspon optimalnih temperatura zraka i aktiviteta vode za njihov rast.

**Tablica 1.** Optimalni uvjeti temperature zraka i aktiviteta vode za rast pojedinih vrsta plijesni kao i njihovi najznačajniji mikotoksini (modificirano prema Thanushree i sur., 2019.)

Mikotoksin	Plijesni	Temperatura (°C)	Aktivitet vode ( $a_w$ )
Aflatoksin	<i>Aspergillus flavus</i>	10-43	0,80-0,99
	<i>Aspergillus parasiticus</i>	32-33	0,80-0,99

Okratoksin	<i>Aspergillus ochraceus</i>	31	0,80
	<i>Penicillium verrucosum</i>	20	0,86
Fumonizin	<i>Fusarium moniliforme</i>	15-30	0,90-0,995
	<i>Fusarium proliferatum</i>		
Deoksinivalenol	<i>Fusarium graminearum</i>	26-30	0,995
T-2 toksin	<i>Fusarium moniliforme</i>	10-30	0,93-0,95
	<i>Fusarium nivale</i>		

Za svaku vrstu mikotoksikogenih plijesni postoji raspon okolišnih čimbenika poput temperature, relativne vlažnosti zraka, oborina i koncentracije CO<sub>2</sub> u kojima preživljavaju, rastu i sintetiziraju mikotoksine. Svi su ti okolišni čimbenici pod utjecajem klimatskih promjena koje posljedično utječu na geografsku preraspodjelu populacija plijesni i promjenu u obrascu produkcije mikotoksina (Miraglia i sur., 2009.; Van der Fels-Klerx i sur., 2016.). Trenutačno se utjecaj klimatskih promjena na mikotoksikogene plijesni temelji na povijesnim ili recentnim klimatskim uvjetima s naglaskom na odnos između dostupnosti vode i temperature zraka (Medina i sur., 2015.). Tako Međuvladin panel za klimatske promjene (engl. *The Intergovernmental Panel on Climate Change*, IPCC) (2007.) smatra da će porastom temperature u višim geografskim širinama, na područjima uz polove i uz ekvator doći do značajnijeg porasta količine padalina jer bi kapacitet vodene pare u zraku rastao oko 7 % s porastom temperature od 1 °C. S druge strane, količina padalina smanjit će se u suptropskim i aridnim regijama gdje se očekuju i češće suše tijekom ljeta. Porast temperature zraka dovest će do učestalih vremenskih ekstrema poput intenzivnijih padalina, toplinskih valova ili valova hladnoće. Također, predviđa se daljnje povećanje koncentracije CO<sub>2</sub> u atmosferi koja je već sada viša za 100 ppm od koncentracije u preindustrijsko vrijeme, a zbog globalnog će se zagrijavanja kapacitet kopna i mora za apsorpiranje CO<sub>2</sub> dodatno smanjiti. Prema recentnim se podacima očekuje se da će se prosječna temperatura na Zemlji podići za 1,4 – 5,8 °C, a u Europi 2 – 6,3 °C. Također, prognozira se da će do kraja stoljeća hladne zime prestajati postojati, a vruća ljeta postat će normalna pojava (MZOP, 2020.).

Zbog svega se toga očekuje da će klimatske promjene utjecati na preraspodjelu kontaminacije usjeva mikotoksinima u svijetu. Prema Europskoj agenciji za sigurnost hrane (EFSA, 2020.) efekti klimatskih promjena na mikotoksikogene plijesni bit će regionalni. Tako će klimatske promjene imati štetne posljedice na obrazac kontaminacije

hrane mikotoksinima u nekim dijelovima svijeta, a u drugim će se područjima smanjiti kontaminacija trenutačno dominantnim mikotoksinima (EFSA, 2020.). Međutim, zbog kompleksnosti odnosa između plijesni, usjeva i okolišnih čimbenika, nužna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdila ova teza (Van der Fels-Klerx i sur., 2016.). Također, promjene u vezi s kontaminacijom mikotoksikogenim plijesnima usko su povezane s vrstom plijesni jer svaka vrsta ima optimalne okolišne uvjete u kojima raste i stvara toksične metabolite, stoga je teško prognozirati globalan efekt.

Tako su Medina i sur. (2015.) ispitivali promjene okolišnih čimbenika i njihov utjecaj na rast mikotoksikogenih plijesni i produkciju mikotoksina. Ti autori ukazuju da će se koncentracija CO<sub>2</sub> udvostručiti ili utrostručiti, a temperatura porasti za 2 do 5 °C, a sušna će razdoblja postati sve učestalija. Prema istim autorima mikotoksikogene plijesni sporije bi rasle u uvjetima suše dok temperatura zraka ne bi imala značajniji utjecaj na rast mikotoksikogenih plijesni (tablica 2). Produkcija mikotoksina bila bi slična ili niža u uvjetima vodnog stresa i više temperature. Na rast plijesni i produkciju mikotoksina više bi utjecao stres suše nego temperature zraka, što implicira da bi prilikom viših temperatura na Zemlji i zbog nedostatka oborina produkcija mikotoksina bila manja nego kada bi se dogodile velike količine oborina.

### **PROGNOZA KONTAMINACIJE USJEVA MIKOTOKSIKOVNIM PLIJESNIMA**

Porast temperature na Zemlji, visoke koncentracije CO<sub>2</sub> u atmosferi te promjene oborinskih režima rezultirat će promjenama u fazama rasta mikotoksikogenih plijesni te promjenama u interakciji domaćina i patogena. To će posljedično značajno utjecati na uvjete produkcije mikotoksina koji se razlikuju od patogena do patogena (Moretti i sur., 2019.). Mikotoksikogene plijesni imaju izrazitu mogućnost prilagodbe na nove okolišne uvjete, stoga bi u sljedećih 20 do 25 godina kontaminacija usjeva plijesnima mogla postati velik problem u osiguranju zdravstvene ispravnosti hrane u različitim dijelovima svijeta (Battilani i sur., 2016.).

Unazad 20 do 30 godina rod *Aspergillus* nastanjivao je tropske i suptropske regije gdje prevladavaju visoke temperature i vlažni uvjeti. Međutim, povećanje prosječne temperature na Zemlji te sve češći toplinski ekstremi doveli su do migracije *Aspergillus* spp. u predjele s umjerenom klimom kao što je jug Europe (Paterson i Lima, 2017.). Kontaminacija žitarica aflatoksinom zabilježena je već 2003. i 2008. godine za vrijeme iznimno vrućih ljeta u Italiji, a 2013. države bivše Jugoslavije zahvatila je epidemija aflatoksina na kukuruzu (de Rijk i sur., 2015.). Prema ispitivanju sadržaja aflatoksina B<sub>1</sub> u stočnoj hrani i

aflatoksina M<sub>1</sub> u mlijeku od 2013. do 2017. u Hrvatskoj utvrđeno je kako je više od pola uzoraka stočne hrane (52,2 %) bilo kontaminirano s AFB<sub>1</sub> (Čuklić i sur., 2019.). Ako se ovi rezultati usporede sa sličnim istraživanjima drugih autora, može se vidjeti da je dobiven visok udio pozitivnih rezultata. Prema sličnom istraživanju udio pozitivnih uzoraka na AFB<sub>1</sub> bio je 24 – 31 % (Mitak i sur., 2013.), a u Hrvatskoj je od 300 uzoraka stočne hrane, 20 % bilo pozitivno na AFB<sub>1</sub> (HAPIH, 2012.). Također, prema istraživanju Medina i sur. (2015.) u kojemu je ispitivan utjecaj aktiviteta vode, temperature zraka i CO<sub>2</sub> na rast *Aspergillus flavus*, dokazana je pozitivna korelacija između povišene temperature (37 °C), visokog udjela CO<sub>2</sub> u zraku (650 – 1000 ppm) i gena *aflD* i *aflR* uključenih u produkciju AFB<sub>1</sub>. Međutim, prema Gallo i sur. (2016.) biomasa plijesni i proizvodnja AFB<sub>1</sub> bila je najviša na 28 °C i 0,96 a<sub>w</sub>, a rast plijesni i proizvodnja AFB<sub>1</sub> potpuno je izostala na 20 °C i vrijednostima a<sub>w</sub> od 0,90 i 0,93. Metodom RT-qPCR-a (engl. *Quantitative Reverse Transcription PCR*) također je otkriveno da su regulatorni geni *aflR* i *aflS* visoko eksprimirani na 28 °C, a najniža je ekspresija uočena na 20 i 37 °C, što upućuje na to da temperatura igra značajnu ulogu u ekspresiji gena i proizvodnji aflatoksina (Gallo i sur., 2016.).

Širok raspon temperatura zraka prilikom kojih se sintetiziraju okratoksini (OTA) čine ih mikotoksinima koji kontaminiraju namirnice diljem svijeta, zbog čega je teško procijeniti utjecaj klimatskih promjena na njihovu distribuciju. Prema García-Cela i sur. (2015.) utvrđeno je da će se plijesni koje produciraju okratoksine prilagoditi promijenjenim vremenskim uvjetima tako da će u sušnim i vrućim uvjetima *Aspergillus tubingensis* i *Aspergillus niger* postati zastupljenije vrste od *Aspergillus carbonarius*. Međutim, drugi autori navode da će aflatoksini postati puno više zastupljeni u usjevima i namirnicama od okratoksina zato što će temperature u (trenutačno) umjerenom klimatskom pojasu postati prikladnije termotolerantnim vrstama roda *Aspergillus* koje produciraju aflatoksine nego vrstama plijesni koje produciraju okratoksine (Paterson i Lima, 2017.).

Međutim, pretpostavlja se da će industrija vina na Sredozemlju biti osobito pogođena klimatskim promjenama zato što će novonastali okolišni uvjeti pogodovati produkciji OTA na grožđu i u vinu. Prema Paterson i sur. (2018.) najviša koncentracija OTA u vinu utvrđena je na 30 °C, a na 20 °C koncentracija OTA bila je znatno niža. Nadalje, najviša koncentracija OTA u vinu utvrđena je prilikom najviše relativne vlažnosti zraka (100 %), a padom relativne vlažnosti zraka ispod 80 %, produkcija OTA u vinu također je značajno pala (Paterson i sur., 2018.). Nadalje, prema istraživanju utjecaja povišenih vrijednosti CO<sub>2</sub> na produkciju OTA u grožđu konstatirano je da će povećanje udjela CO<sub>2</sub> za 2,5 puta u atmosferi utjecati na povećanu kolonizaciju grožđa s *Aspergillus carbonarius* zbog čega će tijekom skladištenja sigurno doći do kontaminacije s OTA. Budući da je prethodno bilo uvriježeno da povišena koncentracija CO<sub>2</sub> ne

utječe na rast *A. carbonarius*, ove nove spoznaje pružaju sasvim novu sliku u ekofiziološke procese ove vrste (Cervini i sur., 2019.).

Što se tiče produkcije OTA u drugim tipovima namirnica, istraživanje utjecaja povišene temperature, aktiviteta vode i koncentracije CO<sub>2</sub> na produkciju OTA u zrnu kave ispitivan je *in vitro*, a rezultati su utvrdili da klimatske promjene imaju stimulirajući utjecaj na rast i produkciju OTA kod određenih vrsta plijesni, a kod drugih upravo suprotan. Naime, *Aspergillus wetserdijkiae* rastao je brže i producirao više OTA prilikom povišenih vrijednosti temperature zraka, aktiviteta vode i koncentracije CO<sub>2</sub>, a kod vrste *Aspergillus carbonarius* u istim je uvjetima utvrđena usporena produkcija OTA (Akbar, 2015.).

Europu odlikuje velik raspon klimatskih uvjeta, od hladne borealne klime na sjeveru do sredozemne na jugu, zbog čega se na kontinentu nalazi velik broj vrsta roda *Fusarium* s različitim zahtjevima prema okolišnim čimbenicima potrebnima za njihov rast. *Fusarium graminearum* plijesan je koja je u prošlom stoljeću dominirala u središnjoj i južnoj Europi, a *Fusarium culmorum* najčešće se pojavljivao u sjevernim predjelima Europe. No u posljednjih 10 godina zabilježen je porast prisutnosti *F. graminearum* na žitaricama u sjevernim dijelovima Europe, čime je situacija značajno izmijenjena (Moretti i sur., 2019.). Prema istraživanju utjecaja klimatskih promjena na rast pšenice ustanovljeno je da će epidemija fuzarijske paleži klasova i kontaminacija deoksinivalenolom biti sve češća pojava u budućnosti u sjevernim dijelovima Europe zbog sve veće prisutnosti *F. graminearum* (Madgwick i sur., 2011.). Nadalje, utvrđeno je kako će promjenom klime prisutnost *F. langsethiae* u Ujedinjenom Kraljevstvu pridonijeti češćoj kontaminaciji zobi i ječma s T-2 i HT-2 toksinom, a u Poljskoj se očekuje kontaminacija i T-2 toksinom i deoksinivalenolom zbog sve učestalijeg rasta *F. poae* i *F. graminearum* na usjevima (Paterson i Lima, 2017.). Verheecke-Vaessen i sur. (2019.) proveli su istraživanje o utjecaju temperature zraka, aktiviteta vode i koncentracije CO<sub>2</sub> na rast, ekspresiju gena i produkciju T-2 i HT-2 toksina plijesni *F. langsethiae* na podlozi od žitarica. Istraživanje je dokazalo da su povećane vrijednosti sva tri klimatska faktora utjecale na znatno povećanje ekspresije gena za biosintezu mikotoksina (*Tri5*, *Tri6*, *Tri16*) i fenotipsku produkciju T-2 i HT-2 toksina. Iako je ekspresija gena *FUM1* koji kodira za enzim poliketid sintazu koja katalizira prvi korak u biosintezi fumonizina reducirana na 35 °C, indukcija ekspresije *FUM1* dokazana je u široku rasponu temperature zraka i aktiviteta vode (20 – 30 °C i blagi vodni stres) pri različitim koncentracijama apliciranog fungicida (Marín i sur., 2013.). Stoga se u budućnosti u južnoj Europi očekuje i učestalija kontaminacija žitarica, osobito kukuruza, plijesnima *F. verticillioides* i *F. proliferatum* i njihovim fumonizinima (Marín i sur., 2013.; Miraglia i sur., 2009.) jer je njihova pojavnost povezana sa suhim vremenom tijekom sadnje i kišama u razdoblju kasne sezone, stoga će biti u korelaciji s predviđenim klimatskim promjenama za područje Sredozemlja.



**Tablica 2.** Promjene u rastu plijesni i produkciji mikotoksina kao rezultat promjene temperature zraka i vodnog stresa (modificirano prema Medina i sur., 2015.)

	Rast plijesni			Produkcija mikotoksina				
	$a_w$	t maks $\mu$	$\mu+3$	$\mu+5$	$a_w$	t maks $\tau$	$\tau+3$	$\tau+5$
<i>Fusarium verticillioides</i>	0,95 0,90	25 25	4-3 0,5-0,1	4-3 NR	0,95 0,93 <sup>a</sup>	FUM 15	10000-100 50-10	100-50 50-10
<i>Fusarium culmorum</i>	0,95 0,90	20 20	3-1 1-0,1	3-1 1-0,1	0,95 0,93 <sup>a</sup>	DON 20	0,25-0,1 NP	0,1-0,01 NP
<i>Fusarium graminearum</i>	0,95 0,90	20 20	4-2 1-0,1	2-1 1-0,1	0,95 0,93 <sup>a</sup>	DON -	1-0,1 NP	0,1-0,01 NP
<i>Fusarium langsethiae</i>	0,98 0,95	25 25	4,6-4,1 1,6,-1,1	3,6-3,1 1,6,-1,1	0,98 0,95	T-2 HT-2	13-14 0-1	14-15 0-1
<i>Aspergillus carbonarius</i>	0,95 0,90	30 30	>6 4-3	6-5 4-3	0,95 0,90	OTA -	1000-500 500-NP	500-NP 500-NP
<i>Aspergillus flavus</i>	0,95 0,90	35 37	5,6 1,4	5,0 0,7	0,95 0,90	AFB1 -	102-138 1-NP	6,1-NP NP
<i>Penicillium verrucosum</i>	0,97 0,90	25 25	1,8-1,9 2-1	0,9-1 2-0,5	0,97 0,90	OTA -	75-70 50-30	>80 50-30

$a_w$  – aktivitet vode; t maks  $\mu$  – maksimalna temperatura prilikom koje će plijesni rasti (mm/dan);  $\mu+3$  – promjena maksimalne temperature rasta za 3 °C;  $\mu+5$  – promjena maksimalne temperature rasta za 5 °C; t maks  $\tau$  – temperatura prilikom koje je detektirana maksimalna sinteza toksina ( $\mu\text{g/ml}$ );  $\tau+3$  – predviđena sinteza toksina prilikom promjene temperature za 3 °C;  $\tau+5$  – predviđena sinteza toksina prilikom promjene temperature za 5 °C.

## ZAKLJUČAK

Budući da svaka mikotoksikogena vrsta plijesni zahtjeva određene okolišne uvjete u kojima raste i sintetizira mikotoksine, podizanje prosječne temperature i koncentracije CO<sub>2</sub> u atmosferi te sve češći ekstremni vremenski uvjeti promijenit će ustaljene obrasce produkcije mikotoksina. Aflatoksini će se zbog klimatskih promjena sve češće pojavljivati u dijelovima svijeta s umjerenom klimom, a istodobno bi u tropskim predjelima zbog visokih temperatura neke aflatoksikogene vrste mogle izumrijeti, što bi se pozitivno odrazilo na tamošnju poljoprivredu. Iako se očekuje pad pojavnosti okratoksina u usjevima u umjerenom pojasu zbog dominacije termotolerantnih vrsta plijesni koje produciraju aflatoksine, smatra se da će vinska industrija imati velikih problema s okratoksinom osobito na području Sredozemlja zbog povišenja temperature, vlage i CO<sub>2</sub> u atmosferi. Nadalje, fuzarijski će se mikotoksini zbog klimatskih promjena sve više pojavljivati u sjevernijim predjelima gdje će uzrokovati velike štete na žitaricama, a kontaminacija plijesnima *F. verticillioides* i *F. proliferatum* bit će još više izražena na području Sredozemlja. Kako bi hrana u budućnosti ostala zdravstveno valjana, potrebna su daljnja istraživanja utjecaja okolišnih čimbenika i njihovih promjena na produkciju mikotoksina u svrhu očuvanja zdravlja potrošača i kako bi se ekonomske štete izazvane kontaminacijom mikotoksina svele na minimum. Također, sva istraživanja upućuju na zaključak da učinak klimatskih promjena na kolonizaciju usjeva plijesnima i proizvodnju mikotoksina treba pojedinačno evaluirati jer svaka vrsta plijesni raste u svojim optimalnim uvjetima temperature zraka i aktivnosti vode te stvara toksične metabolite, što ovu problematiku čini još kompleksnijom.

## PREDICTION OF MYCOTOXIGENIC MOLDS INCIDENCE ON AGRICULTURAL CROPS

### SUMMARY

Mycotoxin synthesis takes place in specific environmental conditions, where temperature, humidity, and CO<sub>2</sub> are considered the key factors in mycotoxin production. Due to climate change and increasingly frequent weather extremes those factors significantly change, hence, the previously established patterns of mold contamination and mycotoxin synthesis in agricultural crops are disrupted. However, the changes in mycotoxigenic mold contamination are expected to have a regional character, closely dependent on individual mold species, as each species grows and synthesizes toxic metabolites at optimal environmental conditions. Aflatoxins are predicted to become frequent grain contaminants in Europe, whilst the aflatoxigenic molds could go extinct in the

tropics due to high temperatures. Also, the distribution and mycotoxins synthesis patterns of mycotoxigenic molds that produce ochratoxins and the members of the *Fusarium* genus will be modified. The increased presence of the molds *F. graminearum*, *F. poae*, and *F. langsethiae* on grains in northern and central Europe and the consequent contamination of these crops with deoxynivalenol and T-2 and HT-2 toxins are particularly concerning. The occurrence of *F. verticillioides* and maize contamination with fumonisins will be even more pronounced in southern Europe, as well as the contamination of wine with ochratoxins produced by *A. carbonarius*. Given climate change and its consequences, further research is necessary to design strategies for preventing crop contamination with mycotoxins in the future.

**Key words:** mycotoxins, molds, agriculture, environmental factors

## LITERATURA

**Akbar, A.** (2015.). Growth and ochratoxin a production by *Aspergillus* species in coffee beans: impact of climate change and control using O3. Ph.D. thesis. Cranfield University.

**Battilani, P., Toscano, P., Van der Fels-Klerx, H.J., Moretti, A., Camardo Leggieri, M., Brera, C., Rortais, A., Goumperis, T., Robinson, T.** (2016.). Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Scientific reports*, 6, 24328.

**Bhat, R., Ravishankar, V.R., Karim, A.A.** (2010.). Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 57-81.

**CAST.** (2003.). Mycotoxins: risks in plant, animal, and human systems. Task Force Report No. 139, Council for Agricultural Science and Technology, Ames, Iowa.

**Cervini, C., Verkeeecke-Vaessen, C., Ferrara, M., García-Cela, E., Magistà, D., Medina, A., Gallo, A., Magan, N., Perrone, G.** (2019.). Interacting climate change factors (CO2 and temperature cycles) effects on growth, secondary metabolite gene expression and phenotypic ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains on a grape-based matrix. *Fungal biology*, 125(2), 115-122.

**Čuklić, D., Tušek, T., Koren, M.A., Jelen, T., Gotić, I., Čuklić, M., Bihar, Z.** (2019.). Aflatoksini u stočnoj hrani i mlijeku u Republici Hrvatskoj od 2012. do 2017. U: Jug, D., Brozović, B. (ur.). 12th International scientific/Professional conference, Agriculture in Nature and Environment Protection. Osijek, Hrvatska, 176-180.

**de Rijk, T.C., van Egmond, H.P., van der Fels-Klerx, H.J. Herbes, R., de Nijs, M., Samson, R.A., Slate, A.B., van der Spiegel, M.** (2015.). A study of the 2013 Western European issue of aflatoxin contamination of maize from the Balkan area. *World Mycotoxin Journal*, 8(5):641-651.

**Domaćinović, M., Čosić, J., Klapac, T., Peraica, M., Mitak, M.** (2012.). Znanstveno mišljenje o mikotoksinima u hrani za životinje. Hrvatska agencija za hranu, Znanstvena mišljenja. Ekspertiza.

**Duarte, S.C., Pena, A., Lino, C.M.** (2011.). Human ochratoxin A biomarkers – From exposure to effect. *Critical reviews in Toxicology*, 41(3): 183-212.

.....  
**EFSA, Maggiore, A., Alfonso, A., Barrucci F., De Sanctis, G.** (2020.). Climate change as a driver of emerging risks for food and feed safety, plant, animal health and nutritional quality. EFSA supporting publication 2020: EN-1881, 146.

**Gallo, A., Solfrizzo, M., Epifani, F., Panzarini, G., Perrone, G.** (2016.). Effect of temperature and water activity on gene expression and aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus* on almond medium. International Journal of Food Microbiology, 217, 162–169.

**García-Cela, E., Crespo-Sempere, A., Gil-Serna, J., Porqueres, A., Marin, S.** (2015.). Fungal diversity, incidence and mycotoxin contamination in grapes from two agro-climatic Spanish regions with emphasis on *Aspergillus* species. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95, 1716–1729.

**HAPIH** (2012.). Godišnje izvješće o rezultatima analiza službenih kontrola hrane i hrane za životinje u 2012. godini, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, dostupno na: [https://www.hah.hr/pdf/izvjescje\\_laboratorija\\_za\\_2012\\_godinu.pdf](https://www.hah.hr/pdf/izvjescje_laboratorija_za_2012_godinu.pdf) (pristupljeno: 24. 5. 2021.)

**Haque, M.A., Wang, Y., Shen, Z., Li, X., Kashif Saleemi, M., He, C.** (2020.). Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review. Microbial Pathogenesis, 142, 104095.

**IPCC** (2007.). Intergovernmental panel on climate change report. Climate Change 2007, Synthesis Report, 52, The Intergovernmental Panel on Climate Change.

**Madgwick, J.W., West, J.S., White, R.P., Semenov, M.A., Townsend, J.A., Turner, J.A. Fitt, B.D.L.** (2011.). Impacts of climate change on wheat anthesis and fusarium ear blight in the UK. European Journal of Plant Pathology, 130, 117–131.

**Marín, P., de Ory, A., Cruz, A., Magan, N., González-Jaén, M.T.** (2013.). Potential effects of environmental conditions on the efficiency of the antifungal tebuconazole controlling *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* growth rate and fumonisin biosynthesis. International Journal of Food Microbiology, 165, 251-258.

**Medina, A., Rodríguez, A., Magan, N.** (2015.). Climate change and mycotoxigenic fungi: impacts on mycotoxin production. Current Opinion in Food Science, 5, 99-104.

**Miličević, D., Nedeljković-Trailović, J., Mašić, Z.** (2014.). Mikotoksini u lancu ishrane – analiza rizika i značaj za javno zdravstvo. Tehnologija mesa, 55, 22-38.

**Miraglia, M., Marvin, H.J.P., Kleter, G.A., Battilani, P., Brera, C., Coni, E., Cubadda, F., Croci, L., De Santis, B., Dekkers, S., Filippi, L., Hutjes, R.W.A., Noordam, M.Y., Pisante, M., Piva, G., Prandini, A., Toti, L., van der Born, G.J., Vespermann, A.** (2009.). Climate change and food safety: An emerging issue with special focus on Europe. Food and Chemical Toxicology, 47(5), 1009-1021.

**Mitak, M.** (2015.). Mikotoksini. U: Patologija hranidbe domaćih životinja. Herak Perković, V. (ur.). Medicinska naklada, Zagreb, 172-183.

**Mitak, M., Bilandžić, N., Pleadin, J.** (2013.). Aflatoksini od krmiva do mlijeka. Veterinarska stanica, 44(5), 363-369.

**Moretti, A., Pascale, M., Logrieco, A.F.** (2019.). Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. Trends in Food Science & Technology, 84, 38-40.

**Munkvold, G.** (2017.). Fusarium species and their associated mycotoxins. U: Mycotoxigenic fungi: methods and protocols. Moretti, A., Susca, A. (ur.). Humana Press, New York, 51-106.

**MZOP** (2020.). Više o učinku staklenika, Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, dostupno na: <https://klima.mzop.hr/default.aspx?id=43/> (pristupljeno: 21. 11. 2020.)

**Paterson, R.R.M., Lima, N.** (2017.). Thermophilic Fungi to Dominate Aflatoxigenic/Mycotoxigenic Fungi on Food under Global Warming. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14, 199.

**Paterson, R.R.M., Venancio, A., Lima, N., Guilloux-Bénatier, M., Rousseaux, S.** (2018.). Predominant mycotoxins, mycotoxigenic fungi and climate change related to wine. *Food Research International*, 478-491.

**Pleadin, J., Frece, J., Markov, K.** (2019.). Mycotoxins in food and feed. U: *Advances in Food and Nutrition Research*, volume 89, Toldrá, F. (ur.). Cambridge, UK, Elsevier, 297-345.

**Pleadin, J., Zadavec, M., Lešić, T., Frece, J., Vasilj, V., Markov, K.** (2020.). Klimatske promjene – potencijalna prijetnja još znatnijoj pojavnosti mikotoksina. *Veterinarska stanica*, 51(6), 659-671.

**Samardžija, M., Jeličić, A., Mitak, M., Pleadin, J.** (2017.). Estrogeni učinci zearalenona u farmских životinja i opasnosti za zdravlje ljudi i životinja. *Veterinarska stanica* 48(2), 109-118.

**Thanushree, M.P., Sailendri, D., Yoha, K.S., Moses, J.A., Anandharamakrishnan, C.** (2019.). Mycotoxin contamination in food: An exposition on spices. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 69-80.

**Van der Fels-Klerx, H.J., Liu, C., Battilani, P.** (2016.). Modelling climate change impacts on mycotoxin contamination. *World Mycotoxin Journal*, 9 (5), 717-726.

**Verhecke-Vaessen, C., Diez-Gutierrez, L., Renaud, J., Sumarah, M., Medina, A., Magan, N.** (2019.). Interacting climate change environmental factors effects on *Fusarium langsethiae* growth, expression of *Tri* genes and T-2/HT-2 mycotoxin production on oat-based media and in stored oats. *Fungal Biology*, 123, 618-624.

**Pregledni rad**